

Génétique, biotechnologies végétales et santé des plantes

FICHE QUESTIONS SUR... n° 06.01.Q03

Mots clés : santé plante - amélioration variétale - biotechnologie

Les principes de la génétique mendélienne ont été appliqués – dès la redécouverte des lois de l'hérédité – à l'amélioration des plantes pour la résistance aux maladies. Les interactions entre les plantes et leurs parasites, ainsi que les supports génétiques de la résistance, ont été progressivement décryptés ; cette connaissance a permis d'orienter la sélection, qui s'est enrichie au cours des dernières décennies de nouvelles techniques.

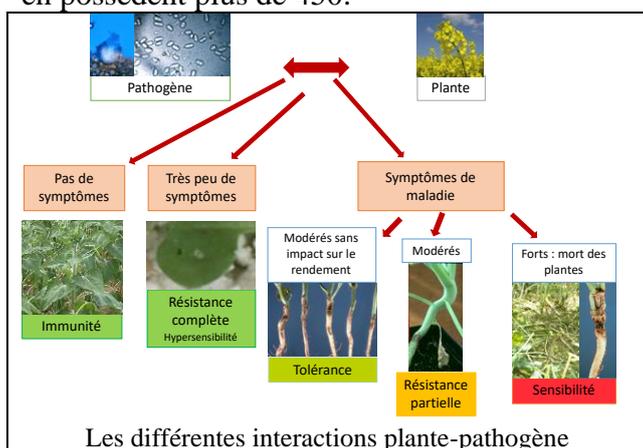
Parmi ces techniques, la transgénèse – efficace mais d'utilisation limitée – laisse progressivement la place à l'édition des génomes, apparue récemment, en forte évolution technique et dans ses applications. Enrichie des données de séquençage des génomes (opération aujourd'hui routinière sur de très nombreuses espèces et variétés), l'édition débouche sur ses premières réalisations et ouvre un très vaste champ d'applications, particulièrement dans le domaine de la santé des plantes.

Les premières approches

Les lois de l'hérédité (Gregor Mendel, 1866) ne suscitent l'intérêt que 40 ans plus tard. Sir Rowland Biffen, directeur du *Plant Breeding Institute* (Cambridge), pensant que les principes de génétique sont essentiels pour développer des variétés améliorées, étudie la descendance d'un croisement entre une variété de blé anglaise sensible à la rouille (*Squarehead*) et une variété américaine résistante (*Girka*), et dès 1910, crée et cultive *Little Joss*, variété résistante et productive, puis de nombreuses autres variétés résistantes.

Les interactions entre les plantes et les pathogènes

La résistance des plantes aux pathogènes est l'état le plus fréquent de leur interaction. Les situations de maladies sont beaucoup plus rares, considérant le nombre d'espèces végétales, de pathogènes et de combinaisons qu'elles pourraient engendrer. En effet, les plantes ont acquis des gènes de résistance qui génèrent des *protéines R* reconnaissant des effecteurs d'attaque spécifiques du pathogène, et induisant une réponse immunitaire. Il existe de très nombreuses *protéines R* ; certaines espèces, comme le riz ou la vigne, en possèdent plus de 450.



Une cascade de mécanismes va conduire à l'hypersensibilité (résistance complète associée à une nécrose des tissus végétaux), localisée au point d'attaque du parasite, et qui bloque son développement.

Il existe aussi des situations intermédiaires où les impacts sur la plante et son rendement sont limités ; il est alors question de résistance partielle où l'expression de gènes de défense est activée à un niveau contenant seulement la maladie dans un développement réduit.

L'objectif de la sélection variétale est d'obtenir des variétés présentant une résistance, complète ou partielle, ou une tolérance, seules situations gérables en culture.

Les supports génétiques de la résistance

Les supports génétiques de ces différentes interactions : résistances complètes ou partielles ou tolérance, sont distincts. Il existe des résistances qualitatives, monogéniques, complètes mais plutôt instables face à l'évolution des souches du pathogène, et des résistances quantitatives, polygéniques, partielles mais stables. L'interaction conduisant à la résistance complète par hypersensibilité a été décrite par Harold Flor. Cette résistance, conséquence d'une interaction très spécifique, peut être instable et contournée : on connaît 36 races différentes de *Bremia lactucae* qui contournent régulièrement les gènes de la laitue, où pourtant 40 facteurs de résistance sont connus. À l'opposé, le gène *are*, introduit chez le haricot il y a plus de 50 ans fait preuve d'exception et n'a pas été contourné par *Colletotrichum lindemuthianum* en climat tempéré.

Les orientations de la sélection

L'agriculture doit disposer de variétés améliorées (rendement et qualité de récolte) et tenir compte des contraintes récentes limitant l'utilisation des produits phytosanitaires. Les variétés doivent donc présenter un bon niveau de résistance ou de tolérance, associé à la meilleure durabilité. La sélection actuelle va compenser les faiblesses d'une approche, par les forces de l'approche opposée en combinant des résistances complètes et des résistances partielles, incomplètes, pour assurer une stabilité du comportement, année après année. La pertinence de ces orientations a déjà été montrée.

Les génotypes d'une espèce montrent souvent une variabilité de résistance partielle (la résistance quantitative) basée sur des mécanismes souvent peu connus ; leur étude conduit à déterminer les secteurs chromosomiques liés à la résistance, qui seront ensuite associés dans le génome (pyramidés) de la variété améliorée. La source des gènes de résistance est issue des variabilités intra- et interspécifiques. Des génotypes très divers d'une espèce sont phénotypés et ensuite utilisés comme donneurs de gènes ; leur phénotypage consiste à pratiquer des inoculations contrôlées, reproductibles sur ces génotypes, sur plusieurs lieux et en comparaison, afin de les caractériser. L'homogénéité relative de ces génotypes, permet la fiabilité du phénotypage, étape importante qui va conditionner la réussite ou l'échec de la caractérisation des gènes.

Des populations issues de croisement entre deux parents de comportement opposé, ou une collection choisie (on parle alors de *core collection*), constituent le matériel génétique étudié afin de déterminer des QTLs¹. Une liste de marqueurs moléculaires – utilisés pour localiser les QTLs – permettront de suivre les régions génomiques supports de résistance dans les variétés végétales en cours de sélection.

La variabilité interspécifique sera évaluée à partir de *sauvages* (écotypes non cultivés) et conduira à rechercher des gènes que la domestication a fait perdre. Le travail est plus complexe, car le phénotypage ne sera alors généralement possible qu'après introduction ces gènes de résistance par hybridation interspécifique dans la variété cultivée puis fixation génétique à la suite de plusieurs générations. C'est un processus qui peut prendre de nombreuses années et qui s'appuie aussi sur des études de génomique.

De nouvelles approches, récentes, efficaces et déjà oubliées !

Les plantes transgéniques sont apparues dès 1983, et la liste des espèces cibles s'est considérablement allongée dans les années 1990 avec de nombreuses monocotylédones alimentaires. Les premiers gènes introduits ont conféré des tolérances (aux herbicides et aux insectes) à des espèces de grande culture : soja, maïs, canola, cotonnier, betterave ont été cultivées dès 1996, et couvrent aujourd'hui annuellement près de 200 millions d'hectares dans 26 pays ; les produits des récoltes sont utilisés dans 70 pays.

Étant donné son importance pour les productions végétales, la résistance aux maladies a fait l'objet de nombreuses recherches, conduisant à des succès dans le cas de la lutte contre les virus végétaux.

Le papayer est sensible au Papaya Ring Spot Virus (virus des taches en anneau) responsable de pertes de récolte importantes par qualité du fruit dépréciée et dépérissement des vergers, notamment à Hawaï : le virus, introduit en 1938, y a conduit à une réduction de 94 % des cultures. Au Brésil, ce virus impose le déplacement permanent des zones de production vers des territoires indemnes. En réponse, des chercheurs des Universités de Cornell et d'Hawaï ont créé des papayers transgéniques, exprimant une protéine de la capsid du virus. Ils sont devenus résistants, car le virus se heurte à un mécanisme de défense naturel de la plante, amplifié par la transgénèse, qui dégrade les acides nucléiques du virus et l'empêche de se multiplier. Cette papaye (*Rainbow*[®] ou *SunUp*[®]) est vendue aux États-Unis depuis 1998.

D'autres espèces ainsi renforcées sont commercialisées aux États-Unis, telles des courgettes résistantes à un complexe de virus (Cucumber Mosaic Virus + Water Melon Mosaic Virus + Zucchini Yellow Mosaic Virus). La pomme de terre *New Leaf*[®], résistante aux doryphores et au Potato Leaf Roll Virus, a également été cultivée plusieurs années. Enfin, certains fruitiers ont été rendus résistants par transgénèse, comme le prunier *Honeysweet*[®], cultivé aux États-Unis et insensible à la sharka (Plum Pox Virus). Tous ces exemples montrent l'intérêt indiscutable de la transgénèse pour lutter contre les virus, avec efficacité et durabilité.

Cette même technique, appliquée aux bactéries et champignons phytopathogènes, a montré des effets plus contrastés : si de bons résultats ont été obtenus en conditions contrôlées (serre), ils ont difficilement pu être reproduits au champ, les conditions climatiques menant à des résistances partielles et instables. L'ISAAA (<http://www.isaaa.org>) fournit une base de données importante sur les espèces modifiées et approuvées.

¹ Un QTL (quantitative trait loci) est une région plus ou moins grande d'ADN, étroitement associée à un caractère quantitatif
[page 2](#) Cette fiche est consultable sur le site internet www.academie-agriculture.fr onglet "*Publications*" puis "*Encyclopédie de l'Académie*"
Reproduction autorisée sous réserve d'en citer la provenance

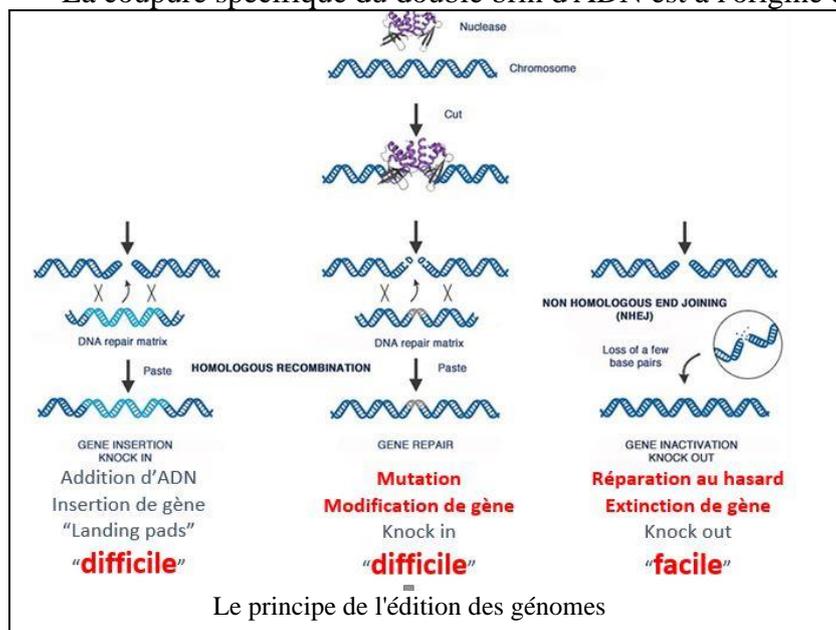
Il faut souligner que la transgénèse a été sous-exploitée, en partie en raison des mouvements d'opinion qui se sont élevés, notamment en Europe, contre son utilisation dans le domaine du végétal.

Les méthodes nouvelles de génétique

Des techniques inédites d'*édition du génome* ont été mises récemment au point pour modifier les séquences d'ADN des chromosomes. Faciles et rapides, elles sont en amélioration constante afin de les rendre plus universelles, plus efficaces, dans une compétition mondiale largement dominée par l'Asie.

Retenons le nom de la plus connue : *CRISPR/Cas*, qui a valu le *Prix Nobel de Chimie 2020* à deux chercheuses : Emmanuelle Charpentier et Jennifer Doudna. *CRISPR/Cas* reconnaît une séquence spécifique de l'ADN du végétal, et coupe les deux brins d'ADN à cet endroit précis. Il est techniquement facile de choisir la séquence spécifique à scinder ; elle peut être unique, mais plusieurs séquences différentes peuvent aussi être visées simultanément. La mise en œuvre de cette technologie passe généralement par une étape de transgénèse, la descendance de la plante transgénique ne conservant que la mutation de l'ADN et aucun élément du processus de transgénèse. Scientifiquement parlant, la plante *éditée* n'est pas transgénique.

La coupure spécifique du double brin d'ADN est à l'origine de trois types de modifications.



1- Après coupure, l'ADN est réparé par les systèmes naturels de la cellule, avec perte de quelques paires de bases, créant une mutation qui conduit à l'inactivation du gène ciblé par sa séquence. On parle de knock-out ou d'extinction de gène ; cette modification est d'obtention facile.

2- Si on utilise une matrice d'ADN (oligonucléotide : courte séquence d'ADN synthétique), il est possible d'introduire une mutation qui n'inactive pas le gène ciblé, mais crée un nouvel allèle par knock-in, opération plus délicate.

3 - Avec une matrice d'ADN beaucoup plus longue, il est possible d'insérer un gène ou de remplacer un gène endogène. Un tel remplacement est possible, mais très

difficile, et cette technique n'a pas atteint aujourd'hui la routine nécessaire à des applications agronomiques.

Les techniques d'*édition du génome* ont déjà été utilisées pour créer des plantes résistantes à des virus, bactéries ou champignons. Certains pays ont déjà mis en place un processus d'évaluation des plantes *éditées* avant leur culture au champ. Les États-Unis – *via* l'agence APHIS-USDA – définissent le statut de ces plantes qui, dans la plupart des cas (knock-out et certains knock-in), ne sont pas soumises à réglementation et peuvent généralement être cultivées comme des plantes conventionnelles ; le site

<https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/biotechnology/am-i-regulated> propose une base de données décrivant leurs caractéristiques. Cette réglementation est en cours de révision, pour une mise en place en octobre 2021 sous le vocable SECURE. (*Sustainable, Ecological, Consistent, Uniform, Responsible, Efficient*).

Résistances aux virus

La résistance aux virus a été conférée à plusieurs plantes *éditées*. Ainsi l'inactivation par utilisation de *CRISPR/Cas* des deux gènes eIF4E nécessaires au cycle des Potyviridae confère aux plantes de concombre une immunité contre Cucumber vein yellowing virus (Ipomovirus) et plusieurs potyvirus. Ces plantes ne conservent que la mutation des gènes et ne contiennent aucun ADN introduit.

Résistances aux bactéries

La résistance aux bactéries a été rarement obtenue par *édition*, toutefois deux exemples – sur des plantes économiquement importantes – montrent tout l'intérêt de la technique.

En utilisant *CRISPR/Cas*, cinq mutations ont été produites dans les promoteurs des gènes SWEET du riz impliqués dans le transport du saccharose et responsables de la sensibilité du riz à *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Ces mutations, créées dans des variétés élites, les rendent résistantes à trois souches de la bactérie.

Le gène CsLOB1, responsable de la sensibilité du Citrus au chancre bactérien causé par *Xanthomonas citri* pv. *citri*, muté à l'aide de *CRISPR/Cas*, rend ces plantes résistantes et en janvier 2020, l'USDA a confirmé que ces plantes n'étaient pas soumises à réglementation et pouvaient être plantées dans des vergers.

Résistance aux champignons

Le blé, muté par *CRISPR/Cas* sur les allèles Mlo, acquiert la résistance à *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*, agent responsable de l'oïdium. Le plus remarquable dans cette approche est que les 3 allèles de ce gène – chacun présent sur les génomes A, B et D du blé – ont pu être modifiés en une seule opération très ciblée. Si cette technique n'avait pas été utilisée, cette résistance n'aurait pas été obtenue car la probabilité d'obtenir les 3 mutations simultanément par mutagenèse classique est proche de 0. Ce même gène Mlo a été muté chez la tomate, conduisant à la résistance.

Chez le riz, la mutation d'OsERF922, facteur répondant à une hormone végétale (l'éthylène), rend le riz résistant à *Magnaporthe oryzae*, pathogène le plus important sur cette céréale.

Édition des génomes et breeding

La résistance aux maladies est la conséquence de phénomènes complexes, et la sélection variétale actuelle tend à combiner des gènes de résistance majeure et des gènes de résistance partielle, pour obtenir à la fois efficacité et durabilité. Les sélectionneurs ont utilisé des gènes issus de *sauvages* dans des approches longues et laborieuses se heurtant à la difficulté de réussir des croisements interspécifiques ; par exemple, l'introduction dans le blé tendre de la résistance au *piétin verse*, issue d'*Aegilops ventricosa*, a nécessité un transfert initial au blé dur, un doublement chromosomique à la colchicine et une hybridation suivie d'un rétrocroisement avec le blé tendre : un ensemble de manipulations longues et complexes de plusieurs années. La richesse des *sauvages*, sous-exploitée, peut dorénavant l'être avec les outils et la connaissance actuelle.

L'*édition des génomes* simplifie et raccourcit ces processus par la modification directe, dans les variétés élite, du (des) gène(s) caractérisées pour leur rôle, et quelle qu'en soit l'origine : même espèce ou espèce végétale apparentée. Les seuls prérequis sont la connaissance des séquences des gènes à muter et la maîtrise des techniques d'*édition du génome* dans les variétés élites. Elle manque encore pour certaines espèces (maïs, tournesol, etc.) ou a été perdue, parfois en conséquence à l'opposition à la transgénèse.

L'*édition* ne remplacera pas les approches classiques de génétique et d'agronomie, ni les pratiques culturelles, mais apportera une solution complémentaire, de mise en œuvre relativement rapide, dans un contexte d'adaptation des pathogènes, d'échanges commerciaux et de changement climatique qui amplifient les pertes de récolte en rendement et en qualité. Elle répond à la demande sociétale, en réduisant l'utilisation des produits de traitement, mais se heurte à la complexité de l'acceptabilité des innovations.

Alain TOPPAN, membre de l'Académie d'Agriculture de France

octobre 2021

Ce qu'il faut retenir :

Depuis plus d'un siècle, les approches de génétique ont permis l'amélioration de la résistance des espèces cultivées à de nombreux pathogènes. Toutefois, la complexité des interactions nécessite de découvrir et d'utiliser de nouvelles approches.

Depuis 1983, l'apport de la transgénèse et plus récemment de l'*édition des génomes* a ouvert de larges perspectives. Ces techniques s'appuient sur l'accumulation inédite des connaissances issues du séquençage, de la bioanalyse et du phénotypage des plantes. Transgénèse et *édition du génome* apportent des solutions efficaces pour augmenter la résistance des espèces cultivées, particulièrement contre les bactéries et virus. Des produits en sont déjà issus, parfois impossibles à obtenir par sélection conventionnelle.

Technique plus simple à mettre en œuvre, en évolution très rapide, l'*édition* raccourcit les délais de sélection. Cet outil nouveau, dont les capacités commencent à être connues, maîtrisées, expérimentées, offre une ouverture scientifique et technique jamais égalée et encore insoupçonnée il y a une décennie.

Nous ne sommes qu'au début de son utilisation, et l'*édition* des génomes végétaux est déjà source de polémiques, comme l'a été la transgénèse précédemment. De nombreux pays classent les produits de ces technologies comme non soumis à réglementation, après une évaluation basée sur des critères scientifiques. Ce n'est pas le cas de l'Europe, et il faudra que sa réglementation évolue pour que nous ne restions pas au bord du chemin dans les domaines scientifiques, économiques pour les entreprises et l'agriculture, pour le bénéfice des agriculteurs, jardiniers et consommateurs.